

叶绿素家族成员的结构差异与生物合成

刘程^{1, #}, 蒋大程^{1, 2, #}, 宋晓旭¹, 邱念伟¹, 周峰^{3, *}

¹曲阜师范大学生命科学学院, 山东曲阜273165

²中国科学院上海生命科学研究院, 上海营养与健康研究所, 中国科学院大学, 上海200031

³南京晓庄学院食品科学学院, 南京211171

摘要: 叶绿素参与光能的吸收、传递和转换过程, 是植物进行光合作用所必需的。目前已发现十余种参与光合作用的叶绿素。本文总结了这些叶绿素的结构特点和相互区别, 系统介绍了已知的光合叶绿素合成途径及相关的合成酶, 理清了各叶绿素成员间的相互关系, 可为植物光合作用研究和叶绿素的生物功能研究提供参考, 也可作为叶绿素的相关教学提供资料。

关键词: 叶绿素; 细菌叶绿素; 化学结构; 生物合成

叶绿素(chlorophylls)广泛分布于绿色植物、藻类和光合细菌中, 是自然界中最重要的天然色素。1817年法国化学家J. B. Caventou和P. J. Pelletier首先分离并命名了叶绿素; 1906年德国化学家R. Willstätter证明叶绿素中含有镁原子, 并证明高等植物的叶绿素是两种叶绿素的混合物(叶绿素*a*和叶绿素*b*), R. Willstätter因此获得1915年诺贝尔化学奖; 随后, 德国化学家H. Fischer阐明了叶绿素*a*的化学结构, 证实叶绿素和血红素的结构相似, 核心结构均是由卟啉构成的, 他也因此获得1930年诺贝尔化学奖; 1960年, 美国化学家R. B. Woodward发表了叶绿素*a*分子的人工合成方法, 他因为在叶绿素等复杂有机化合物合成方面的杰出贡献而获得1965年诺贝尔化学奖。这三项诺贝尔奖说明了叶绿素在自然界中的重要性。此后, 科学家在自然界中陆续发现了100余种叶绿素及其衍生物(Scheer 2006)。

这些叶绿素及其衍生物中, 目前已证实直接参与光合作用的天然叶绿素共有10余种, 它们按照发现的顺序依次用英文字母命名。根据这些叶绿素在光合生物中的分布, 又分为放氧光合生物中的叶绿素(Chls)和不放氧光合生物中的细菌叶绿素(bacteriochlorophylls, BChls)两大类(Chew和Bryant 2007; Harada等2014)。Chls目前已发现7种, 分别为Chls *a*、*b*、*c*₁、*c*₂、*c*₃、*d*、*f*, 主要分布在高等植物、藻类和蓝细菌(蓝藻)中, 其中Chl *f*是澳大利亚华裔科学家2010年从生长在澳大利亚鲨鱼湾层叠石中的一种藻青菌(cyanobacterium)中发现的

(Chen等2010)。1948年, H. Strain曾在其未发表的文献中报道了一种新的Chl *e*, 在上世纪50~70年代的一些专著中也曾提到Chl *e*。不过, Chl *e*的结构、功能和性质均未得到证实和公认。为了区分Chl *e*, 层叠石中新发现的叶绿素被命名为Chl *f*。BChls主要分布在绿色硫细菌(green sulfur bacteria)、紫色细菌(purple bacteria)、嗜酸细菌(acidobacteria)和日光杆菌(heliobacteria)等不放氧的光合细菌中, 目前已发现7种, 分别为BChls *a*、*b*、*c*、*d*、*e*、*f*、*g* (Harada等2014)。其中BChl *f*仅能够在含有BChl *e*的一种绿色硫细菌(*Chlorobaculum limnaeum*)的人工突变体中合成, 自然界中并不存在(Vogl等2012)。上述叶绿素的结构非常相似, 合成过程也具有密切关系。本文整理了参与光合作用的叶绿素家族成员的结构特点和生物合成途径, 为叶绿素相关教学科研提供参考。

1 叶绿素家族成员的结构通式和差异位点

不同的叶绿素在化学结构上稍有差异, 使它们具有了不同的吸收光谱, 使光合生物能够利用不同波长的光进行光合作用, 扩展了光合生物的生活空间(Croce和van Amerongen 2014)。它们的

收稿 2019-07-29 修定 2020-01-12

资助 江苏省高等学校自然科学研究重大项目(19KJA310009)、山东省研究生教育创新计划项目(SDY16087)和国家大学生创新创业训练计划项目(201810446041)。

并列第一作者。

* 通讯作者(zfibcas@163.com)。

核心结构类似, 都是由卟啉环“头部”和酯化醇“尾部”构成, 其上的碳原子和碳环由国际理论与应用化学联合会-国际生物化学联合会(IUPAC-IUB)进行统一编号和命名(Moss 1988)。卟啉环是由4个吡咯环(I、II、III、IV环)和4个甲烯基(=CH-)连成的一个大环, 另外还有一个含羰基和羧基的副环(同素环V)。严格意义上说, 叶绿素的头部是5个环构成的二氢卟吩(chlorin), 习惯上称之为“卟啉环头部”。卟啉环的中央有一个镁原子, 带正电荷, 与之相连的氮原子带负电荷, 故卟啉环头部是亲水性的。除Chls *c*没有“酯化醇尾”外, 其他叶绿素都酯化了一个长短不一的由异戊二烯单位构成的亲脂醇(R^{17-3}), 以酯键与第IV吡咯环侧链上的丙酸结合。各种叶绿素的结构差异除酯化醇尾碳链长度不同外, 更多表现在卟啉环头部的7个侧链(R^2 、 R^3 、 R^7 、 R^8 、 R^{12} 、 R^{13-2} 、 R^{20})上, 目前发现的所有光合叶绿素的 R^{18} 侧链均相同, 都是甲基(-CH₃)。此外, 在C7-C8、C17-C18、C17¹-C17²位置, 有的叶绿素是双键, 有的是单键(图1)。所有光合叶绿素的结构差异位点列于表1。

2 叶绿素的生物合成

叶绿素的生物合成是一个非常复杂的过程,

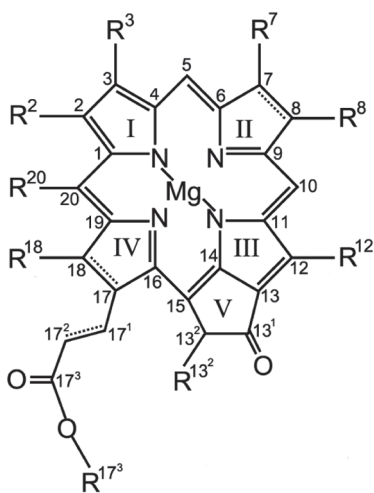


图1 叶绿素结构通式

Fig.1 The general structure of chlorophyll

R表示不同的侧链, 虚线表示此处可能是单键或双键, I~V表示叶绿素分子头部的五个小环的标记顺序。

但所有叶绿素合成途径的主干是完全相同的。目前发现的所有天然光合叶绿素都是从3,8-二乙烯基-原叶绿素酸酯*a* (3,8-divinyl-protochlorophyllide *a*, DV-PChlide *a*)合成的(Chew和Bryant 2007; Harada等2014), DV-PChlide *a*再通过不同的生化途径转化为不同的叶绿素。因此, DV-PChlide *a*是叶绿素合

表1 各类光合叶绿素的结构差异

Table 1 The structural differences of various photosynthetic chlorophylls

叶绿素成员	R ²	R ³	R ⁷	R ⁸	C7-C8	R ¹²	R ¹³⁻²	C17-C18	C17 ¹ -C17 ²	R ²⁰	R ¹⁷⁻³
Chl <i>a</i>	CH ₃	CH=CH ₂	CH ₃	C ₂ H ₅	=	CH ₃	COOCH ₃	-	-	H	植醇
Chl <i>b</i>	CH ₃	CH=CH ₂	CHO	C ₂ H ₅	=	CH ₃	COOCH ₃	-	-	H	植醇
Chl <i>c</i> ₁	CH ₃	CH=CH ₂	CH ₃	C ₂ H ₅	=	CH ₃	COOCH ₃	=	=	H	H
Chl <i>c</i> ₂	CH ₃	CH=CH ₂	CH ₃	CH=CH ₂	=	CH ₃	COOCH ₃	=	=	H	H
Chl <i>c</i> ₃	CH ₃	CH=CH ₂	COOCH ₃	CH=CH ₂	=	CH ₃	COOCH ₃	=	=	H	H
Chl <i>d</i>	CH ₃	CHO	CH ₃	C ₂ H ₅	=	CH ₃	COOCH ₃	-	-	H	植醇
Chl <i>f</i>	CHO	CH=CH ₂	CH ₃	C ₂ H ₅	=	CH ₃	COOCH ₃	-	-	H	植醇
BChl <i>a</i>	CH ₃	COCH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅	-	CH ₃	COOCH ₃	-	-	H	植醇
BChl <i>b</i>	CH ₃	COCH ₃	CH ₃	=CH-CH ₃	-	CH ₃	COOCH ₃	-	-	H	植醇
BChl <i>c</i>	CH ₃	CHOH-CH ₃	CH ₃	多种	=	多种	H	-	-	CH ₃	法呢醇
BChl <i>d</i>	CH ₃	CHOH-CH ₃	CH ₃	多种	=	多种	H	-	-	H	法呢醇
BChl <i>e</i>	CH ₃	CHOH-CH ₃	CHO	多种	=	多种	H	-	-	CH ₃	法呢醇
BChl <i>f</i>	CH ₃	CHOH-CH ₃	CHO	多种	=	多种	H	-	-	H	法呢醇
BChl <i>g</i>	CH ₃	CH=CH ₂	CH ₃	=CH-CH ₃	-	CH ₃	COOCH ₃	-	-	H	法呢醇

“-”表示单键, “=”表示双键; BChls *c*、*d*、*e*、*f*的R⁸侧链可以是乙基、丙基、异丁基或新戊基, R¹²侧链可以是甲基或乙基; 除植醇、法呢醇外, 某些BChl还有其他类型的酯化醇。

成的直接前体物质。自1948年S. Granick首先提出叶绿素合成途径以来, 叶绿素的生物合成不断取得新进展, 各个叶绿素家族成员的合成途径逐渐被阐明(Harada等2014; Thweatt等2017), 但是还有部分合成途径仍不清楚。

2.1 叶绿素生物合成路径的主干和分支

生物体中叶绿素的合成始于 δ -氨基乙酰丙酸(δ -aminolevulinic acid, ALA, 也称为 δ -氨基酮戊酸)。ALA的合成途径有两种: (1) C4+C1途径: 由ALA合成酶(ALA synthetase)催化琥珀酸辅酶A和甘氨酸反应, 生成ALA (Porra 1997); (2) C5途径: 以谷氨酸(或 α -酮戊二酸)为原料, 在谷氨酰-tRNA合成酶(glutamyl-tRNA synthetase)的催化下, 将谷氨酸转移到tRNA分子上, 形成L-谷氨酰-tRNA, L-谷氨酰-tRNA再被谷氨酰-tRNA还原酶(glutamyl-tRNA reductase)还原为L-谷氨酸酯-1-半醛(L-glutamic acid 1-semialdehyde)并释放完整的tRNA, L-谷氨酸-1-半醛最后在 δ -氨基乙酰丙酸合酶[或称谷氨酸-1-半醛氨基转移酶(glutamate-1-semialdehyde aminotransferase)]的作用下生成ALA (Beale 2005, 2006)。

随后, 8分子ALA由6种酶催化合成叶绿素的前体物——原卟啉IX (protoporphyrin IX, Proto-IX)。首先在胆色素原合成酶(porphobilinogen synthase)的作用下, 两分子ALA缩合成具有吡咯环的胆色素原(porphobilinogen, PBG)。4分子PBG在胆色素原脱氨酶(porphobilinogen deaminase)催化下脱去4个氨基相互连接成链状, 生成羟甲基胆色烷(hydroxymethylbilane); 羟甲基胆色烷在尿卟啉原III合成酶(uroporphyrinogen III synthase)的作用下, 4个吡咯环闭合生成尿卟啉原III (uroporphyrinogen III), 至此卟啉环的大致框架结构就已经基本形成。尿卟啉原III在尿卟啉原III脱羧酶(uroporphyrinogen III decarboxylase)作用下脱去4个羧基, 生成粪卟啉原III (coproporphyrinogen III)。随后粪卟啉原III在粪卟啉原氧化脱羧酶(coproporphyrinogen oxidative decarboxylase)作用下生成原卟啉原IX (protoporphyrinogen IX), 后者进一步在原卟啉原氧化酶(protoporphyrinogen oxidase)的作用下, 氧化脱氢生成原卟啉IX。原卟啉IX是所有叶绿素、细菌叶绿素、血红素及其衍生物的合成前体。上述生

化过程及中间产物的结构式在很多教材及外文文献中有详细介绍(Porra 1997; Beale 2005), 但有些教材中上述中间产物的命名不严谨。

由原卟啉IX合成叶绿素的第一步反应是与 Mg^{2+} 螯合, 由Mg-螯合酶(Mg-chelatase, 由BchH、BchD、BchI或ChlH、ChlD、ChlI三亚基构成)催化, 将 Mg^{2+} 插入原卟啉IX中, 形成Mg-原卟啉IX (Walker和Willows 1997; Bollivar 2006; Tamiaki等2016), 该反应需要活化和螯合两个依赖ATP的步骤, 每插入一个 Mg^{2+} 需要水解约15个ATP (Reid和Hunter 2004)。Mg-原卟啉IX在Mg-原卟啉IX甲基转移酶(Mg-Proto-IX methyltransferase, ChlM或BchM)的催化下, 将C13位上的丙酸基团甲酯化, 生成Mg-原卟啉IX单甲酯(Mg-Proto-IX-monomethylester); 然后通过Mg-原卟啉IX单甲酯环化酶(Mg-proto-IX monomethylester cyclase, BchE或ChlA)的作用, 将C13上的丙酸链氧化并环化, 形成异戊酮环(V环), 就生成了所有叶绿素的直接合成前体物——DV-PChlide *a*。ChlA是有氧光合生物催化此步反应的酶, 因亚基中含有Fe, 被称为含有铁离子的环化酶系统(the aerobic cyclization system Fe-containing subunit, AcsF) (Pinta等2002); BchE则是对氧敏感的酶, 负责厌氧光合细菌中此步反应的催化; 有些在缺氧或微缺氧环境中生活的紫色细菌同时具有ChlA和BchE (Oh等2000)。叶绿素合成途径的主干和分支总结如图2所示。

叶绿素合成过程的下一步骤有两个分支(图2)。一个分支是通过原叶绿素酸酯氧化还原酶(protochlorophyllide oxidoreductases, PORs)将DV-PChlide *a*第IV吡咯环的C17=C18双键还原成单键, 生成8-乙烯基-原叶绿素酸酯*a* (8-vinyl-chlorophyllide *a*, 8V-Chlide *a*), 再通过二乙烯基还原酶(divinyl reductases, DVRs)将8V-Chlide *a*上的C8乙烯基还原成乙基, 生成叶绿素酸酯*a* (chlorophyllide *a*, Chlide *a*) (Tsukatani等2013a)。目前, DVR已经发现了3种成员: BciA、BciB和叶绿素酸酯*a*氧化还原酶(chlorophyllide *a* oxidoreductase, COR) (Harada等2014)。另一个分支是通过DVRs先将DV-PChlide *a*上的C8乙烯基还原成乙基, 生成原叶绿素酸酯*a* (protochlorophyllide *a*, PChlide *a*), PChlide *a*也称为

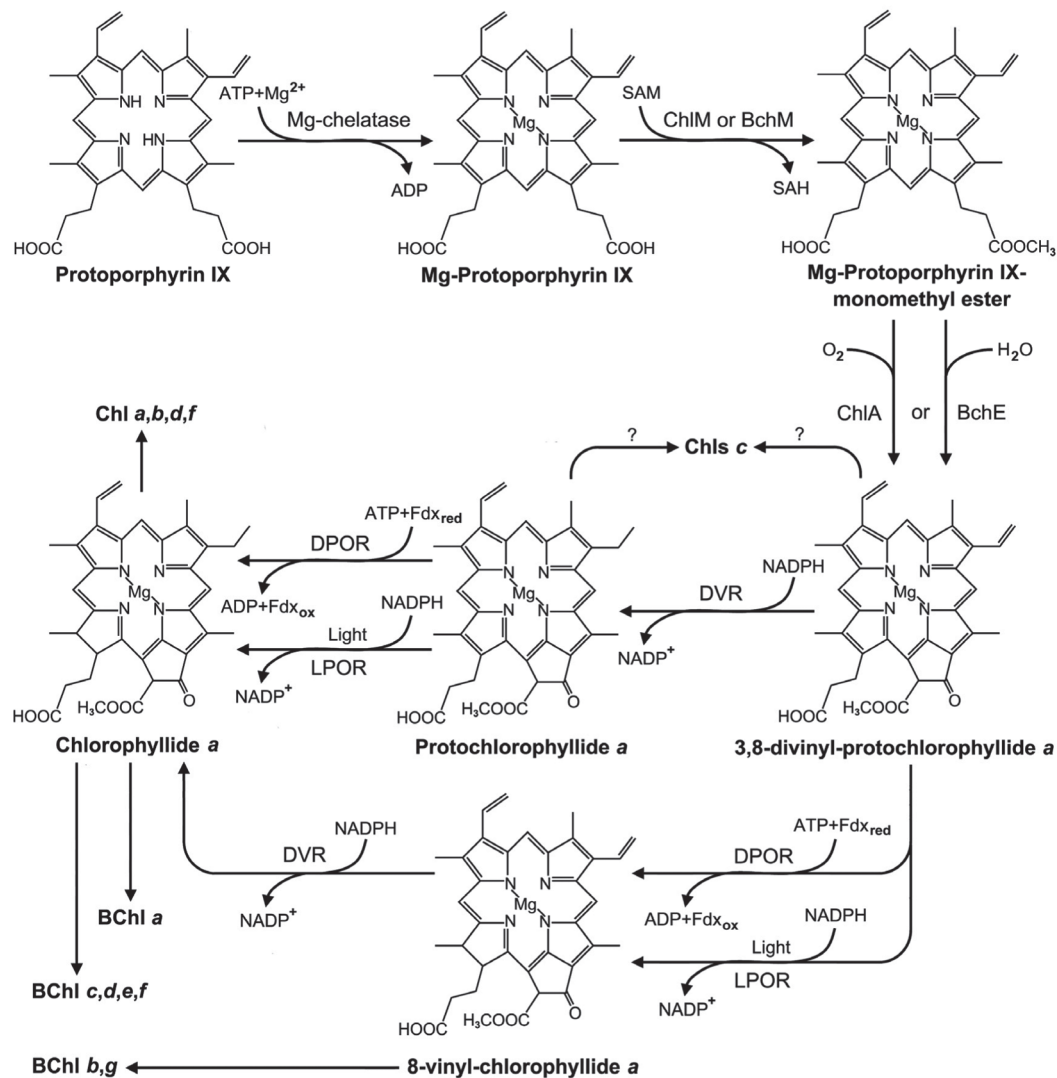


图2 叶绿素生物合成路径的主干和分支

Fig.2 The trunk and branches of biosynthetic pathway of chlorophylls

原叶绿素(Saunders等2013)。然后原叶绿素再经POR催化, 将C17=C18双键还原, 生成Chlide *a* (Wang等2010)。研究表明, 细菌叶绿素合成中DVRs的优选底物是8V-Chlide *a*, 只有当8V-Chlide *a*积累时, 才会启动第二个分支生成Chlide *a* (Canniffe等2014)。

POR是叶绿素合成中的关键酶和限速酶。在光合生物中发现了两种结构不相关的PORs: 光依赖性原叶绿素酸酯氧化还原酶(light-dependent protochlorophyllide oxidoreductase, LPOR)和非光依赖性原叶绿素酸酯氧化还原酶(dark-operative proto-

chlorophyllide oxidoreductase, DPOR) (Suzuki和Bauer 1995)。LPOR是只有一个核基因编码的亚基构成的酶, 需要吸收光能才能进行催化反应, 普遍存在于蓝细菌和所有真核光合生物中(Heyes等2006)。DPOR则是由3个亚基组成的蛋白质复合体(高等植物中为ChlL、ChlB和ChlN, 光合细菌中为BchL、BchB和BchN), 普遍存在于原核光合生物和除被子植物外的一些真核光合生物中(Chen 2014)。DPOR催化活性依赖于ATP和连二亚硫酸盐(或还原性铁氧还蛋白) (Nomata等2006), 其对游离氧高度敏感, 当游离氧浓度超过3%时DPOR失

活(Yamazaki等2006)。被子植物没有DPOR编码基因,因此在被子植物中PChlide向Chlide转化是依赖光照的,如果在黑暗中生长,这些植物会黄化。含有DPOR的光合生物则在黑暗中也能合成叶绿素。

2.2 Chls的生物合成途径

2.2.1 Chl *a*、Chl *b*、Chl *d*和Chl *f*的生物合成

叶绿素特异合成酶(chlorophyll specific synthase, ChlG)催化Chlide *a*的C17-丙酸与植基-焦磷酸(phytyl-pyrophosphate)酯化,就完成了Chl *a*的合成。一般认为Chl *b*是直接由Chl *a*演变而来的,Chl *a*加氧酶(chlorophyll *a* oxygenase, CAO)将Chl *a*上C7处的甲基氧化成甲酰基,就合成了Chl *b*。近年来发现CAO也可将Chlide *a*上的C7甲基氧化成甲酰基,先合成Chlide *b* (Tsuchiya等2012; Li和Bridwell-Rabb 2019); ChlG再催化Chlide *b*与植基-焦磷酸酯化,生成Chl *b* (图3)。

有实验证明Chl *a*是Chl *d*的生物合成前体,推测Chl *d*在C3处的甲酰基是通过氧化脱羧反应形成的(Schliep等2010; Chen 2014),但目前尚未发现将Chl *a*转化为Chl *d*的相关酶,具体合成过程还不清楚。Chl *f*可看作是2-甲酰基-Chl *a* (Willows等2013),其合成也是光依赖性的,说明Chl *f*合成酶(ChlF)是氧化Chl *a* (或Chlide *a*)生成Chl *f* (或Chlide *f*)的光氧化还原酶(Ho等2016; Li和Bridwell-Rabb 2019)。Chl *f*上的C2-甲酰基中的氧原子来自分子氧而不是水分子(Garg等2017)。同样,Chlide *f*最后再与植基-焦磷酸酯化生成Chl *f* (图3)。

2.2.2 Chls *c*的生物合成

Chls *c*的结构特点是没有“酯化醇尾”,其结构与DV-PChlide *a*和PChlide *a*类似。因此,常把后两者也归为Chls *c*,它们可能分别是Chl *c*₁和Chl *c*₂的生物合成前体(Helfrich等2003)。Zapata等(2006)推测了DV-PChlide *a*和PChlide *a*与Chl *c*₁和Chl *c*₂之间的可能生物合成关系。Chl *c*₃也可称为“7-甲氧羰基-Chl *c*₂”,Porra (1997)认为Chl *c*₃可能是由Chl *c*₂合成的; Chl *c*₃中C7-甲氧羰基(-COOCH₃)的合成,可能是Chl *c*₂的C7-甲基先氧化成甲酰基(-CHO),然后再形成甲氧羰基。Chls *c*生物合成过程直到现在仍未有直接证据。

2.3 BChls的生物合成途径

BChls的生物合成有两个支路,除了BChl *b*和BChl *g*的前体是8V-Chlide *a*外,其他所有类型的BChls都是由Chlide *a*合成的(图4)。BChls生物合成的最后一步基本上都是叶绿素合成酶将BChlides与植基-焦磷酸(或法呢基-焦磷酸等其他酯化醇)酯化生成BChls,不排除BChls之间有相互转化的可能。

2.3.1 BChl *a*的生物合成

从Chlide *a*合成BChl *a*的第一步是通过COR还原Chlide *a*的C7=C8双键,生成3-乙烯基-细菌叶绿素酸酯*a* (3-vinyl-bacteriochlorophyllide *a*, 3V-BChlide *a*) (Nomata等2006)。COR由3个亚基组成: BchX、BchY和BchZ。BchY和BchZ是底物结合蛋白,是COR的催化部位(Nomata等2006; Tsukatani等2013a, 2015), BchX被认为是供电子元件。3V-BChlide *a*先在BchF的作用下,在C3-乙烯基处发生水合作用,引入C3¹-羟基(Porra等1996)。水合反应之后,再在BchC的作用下,使C3侧链脱氢转变成C3-乙酰基,生成BChlide *a* (Bollivar等1994; Lange等2015) (图4)。BChl *a*生物合成的最后一步是经BChl *a*特异性合成酶(BchG)催化,在BChlide *a*的C17-丙酸上添加植基尾(Addlesee等2000; Garcia-Gil等2003)。

2.3.2 BChl *c*、BChl *d*、BChl *e*和BChl *f*的生物合成

在BChl *c*, *d*, *e*和*f*的生物合成中,首先通过BciC去除Chlide *a*的C13²-甲氧基羰基,形成3-乙烯基-细菌叶绿素酸酯*d* (3-vinyl-bacteriochlorophyllide *d*, 3V-BChlide *d*) (Liu和Bryant 2011; Teramura等2016a),后者在BchF或BchV作用下,使C3乙烯基发生水合反应,在C3¹上引入羟基,生成BChlide *d* (Harada等2015; Teramura等2016b)。BChlide *d*是合成BChlide *c*、*e*和*f*的前体。

天然存在的BChlide *c*、*d*和*e*具有多个同系物,在3V-BChlide *d*合成BChlide *d*过程中,可以在C8和C12位置形成不同的侧链,这些不同的侧链是以S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)作为甲基供体逐个甲基化产生的(Huster和Smith 1990)。在光合细菌中发现了两种类型的叶绿素甲基转移酶BchQ和BchR,它们分别将甲基加到C8²-乙基碳和C12¹-甲基碳上。在C8²处最多可以加上3个甲基,

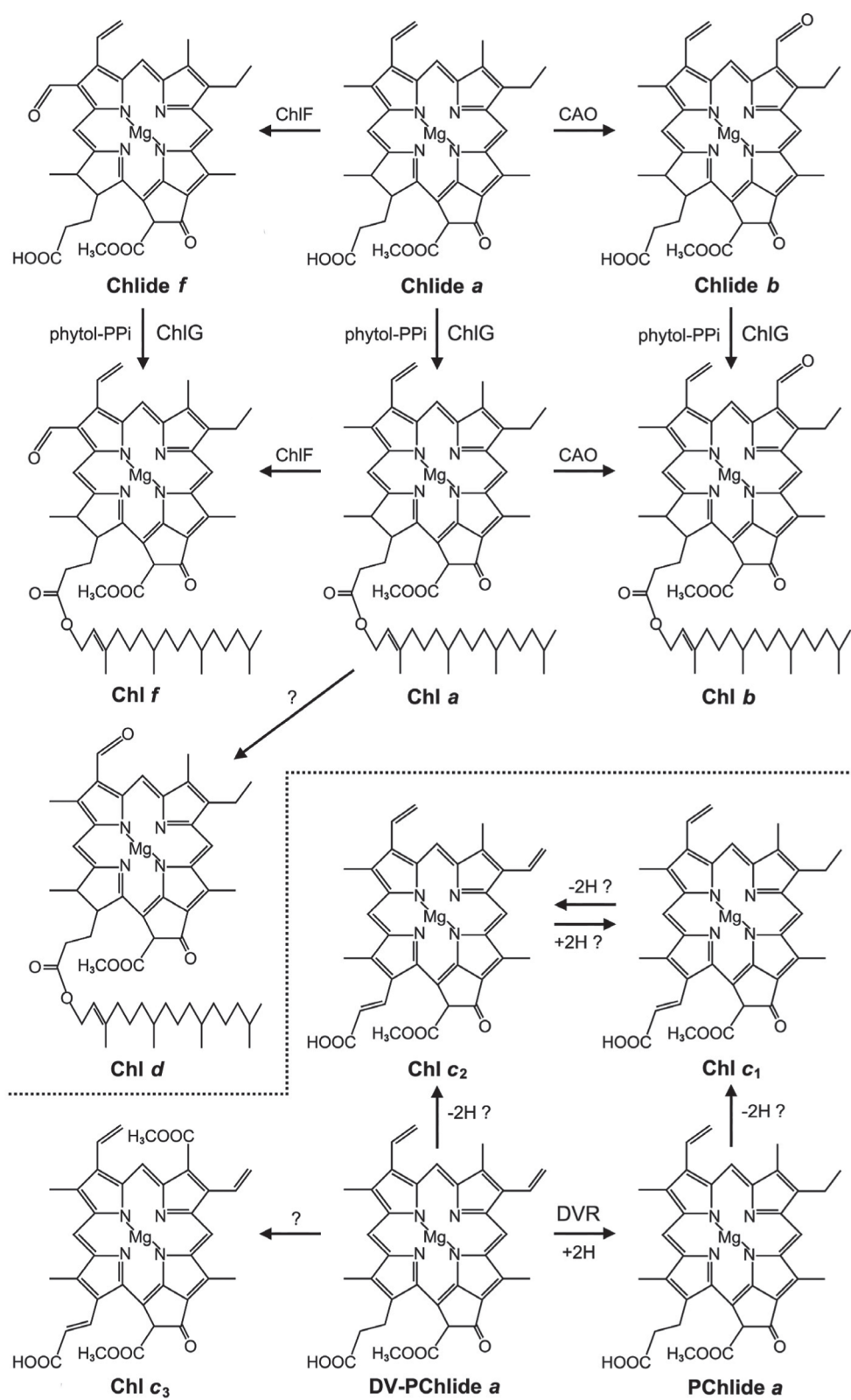


图3 Chls的生物合成途径

Fig.3 The biosynthetic pathway of Chls

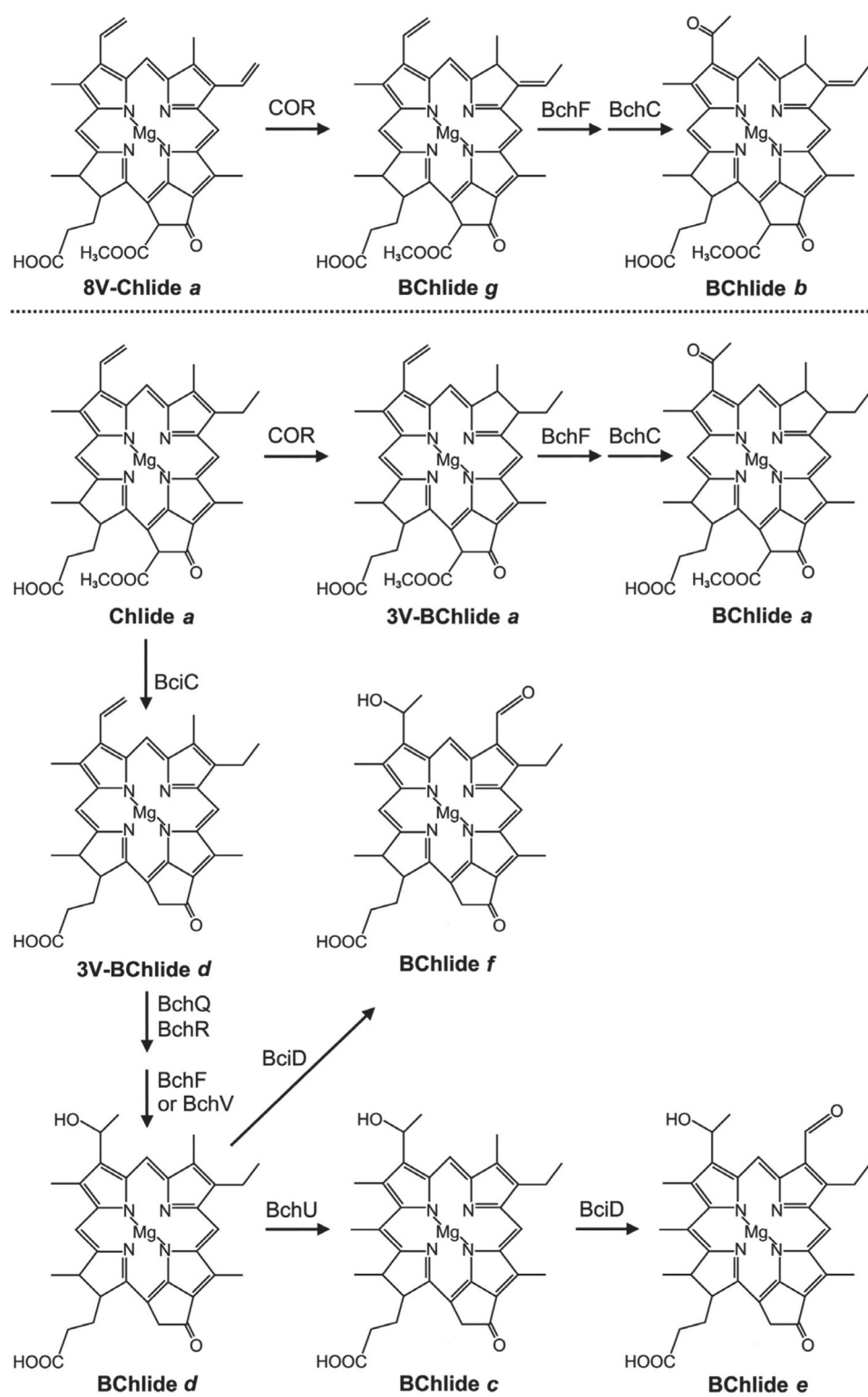


图4 BChls的生物合成途径

Fig.4 The biosynthetic pathway of BChls

在C12¹处仅能加上一个甲基。因此, C8侧链可以是乙基、丙基、异丁基或新戊基, C12侧链可以是甲基或乙基(Glaeser等2002; Frigaard等2003; Frigaard等2006)。

通过甲基转移酶BchU将一个甲基转移到BChlide *d*的C20次甲基桥位置上, 就可以将BChlide *d*转化为BChlide *c* (Maresca等2004; Harada等2005)。BChlide *c*的C7位的甲基被自由基-SAM酶BciD氧化, 形成甲酰基, 就生成了BChlide *e*。BChlide *d*也可以被BciD氧化, 发生相同的反应, 转化为BChlide *f* (Thweatt等2017)。BchK是BChls *c*、*d*、*e*和*f*生物合成中的最后一个特异性合成酶, 它将法呢醇或其他酯化醇(farnesyl tail)酯化到BChlides *c*、*d*、*e*和*f*的C17丙酸侧链上(Frigaard等2002)。

2.3.3 BChl *b*和BChl *g*的生物合成

BChls *b*和*g*的C8侧链是个亚乙基。COR (Bv-COR或HmCOR)同时催化8V-Chlide *a*的C8-乙烯基和C7=C8双键形成C8-亚乙基(CH₃CH=), 生成BChlide *g* (Tsukatani等2013a, b)。类似于从3V-BChlide *a*合成BChlide *a*, BChlide *g*的C3-乙烯基(-CH=CH₂)可以通过BchF和BchC催化分别进行水合和脱氢作用, 形成C3-乙酰基(-COCH₃), 就变成了BChlide *b* (Bollivar等1994; Suzuki等1997)。根据基因组信息, BchF和BchC编码基因也存在于含有BChl *b*的细菌中, 因此推测亚乙基的形成也可以发生在BChlide *a*上, 然后再形成C3-乙酰基, 合成BChlide *b* (Tsukatani等2013a)。BChlide *b*和BChlide *g*通过特异性叶绿素合成酶BchG分别添加植基和法呢基, 最终生成BChl *b*和BChl *g* (Chew和Bryant 2007)。

除了植醇尾和法呢醇尾外, 某些BChls还有其他酯化醇尾, 如香叶基香叶基醇、二氢香叶基香叶基醇和四氢香叶基香叶基醇等, 使细菌叶绿素呈现多样性, 具有不同的吸收光谱, 能够利用近紫外光、远红光甚至红外光进行光合作用, 使光合细菌能够生活在强光、深海、层叠石岩缝等各种环境中(Frigaard等2002; Glaeser等2002; Tsukatani等2015)。

3 小结与展望

所有Chls和BChls的化学结构均非常相似, 都

具有卟啉环头部, 说明卟啉环是叶绿素参与光合作用所必需的。不同的光合生物通过改变卟啉环上的单/双键或侧链来改变叶绿素吸收光谱, 从而使太阳光能的捕获和转化产生功能多样性。除Chls *c*外, 其他叶绿素都含有植醇、法呢醇或其他萜醇尾, 但尾长对叶绿素吸收光谱性质的影响仍不清楚。各叶绿素成员间的生物合成关系密切, DV-PChlide *a*是所有叶绿素成员的直接生物合成前体, DV-PChlide *a*主要经8V-Chlide *a*合成Chlide *a*。大部分叶绿素的生物合成来自于Chlide *a*, 只有BChl *b*和*g*来自于8V-Chlide *a*。Chls *c*的合成途径尚不清楚, 根据其结构推测可能来自于DV-PChlide *a*或PChlide *a*。通过对叶绿素家族成员及其合成过程的梳理, 有助于了解光合作用光能吸收和利用的多样性, 也可未来通过基因工程改变光合生物中叶绿素种类的研究提供思路, 以扩大光合生物光能利用范围, 提高它们的光合能力。

参考文献(References)

- Addlesee HA, Fiedor L, Hunter CN (2000). Physical mapping of *bchG*, *orf427*, and *orf177* in the photosynthesis gene cluster of *Rhodobacter sphaeroides*: functional assignment of the bacteriochlorophyll synthetase gene. *J Bacteriol*, 182 (11): 3175–3182
- Beale SI (2005). Green genes gleaned. *Trends Plant Sci*, 10 (7): 309–312
- Beale SI (2006). Biosynthesis of 5-aminolevulinic acid. In: Grimm B, Porra RJ, Rüdiger W, et al (eds). *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications*. Dordrecht: Springer, 147–158
- Bollivar DW (2006). Recent advances in chlorophyll biosynthesis. *Photosynth Res*, 90 (2): 173–194
- Bollivar DW, Suzuki JY, Beatty JT, et al (1994). Directed mutational analysis of bacteriochlorophyll *a* biosynthesis in *Rhodobacter capsulatus*. *J Mol Biol*, 237 (5): 622–640
- Canniffe DP, Chidgey JW, Hunter CN (2014). Elucidation of the preferred routes of C8-vinyl reduction in chlorophyll and bacteriochlorophyll biosynthesis. *Biochem J*, 462 (3): 433–440
- Chen M (2014). Chlorophyll modifications and their spectral extension in oxygenic photosynthesis. *Annu Rev Biochem*, 83 (1): 317–340
- Chen M, Schliep M, Willows RD, et al (2010). A red-shifted chlorophyll. *Science*, 329 (5997): 1318–1319
- Chew AGM, Bryant DA (2007). Chlorophyll biosynthesis in

- bacteria: the origins of structural and functional diversity. *Annu Rev Microbiol*, 61 (1): 113–129
- Croce R, van Amerongen H (2014). Natural strategies for photosynthetic light harvesting. *Nat Chem Biol*, 10 (7): 492–501
- Frigaard NU, Chew AGM, Li H, et al (2003). *Chlorobium tepidum*: insights into the structure, physiology, and metabolism of a green sulfur bacterium derived from the complete genome sequence. *Photosynth Res*, 78 (2): 93–117
- Frigaard NU, Chew AGM, Maresca JA, et al (2006). Bacteriochlorophyll biosynthesis in green bacteria. In: Grimm B, Porra RJ, Rüdiger W, et al (eds). *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications*. Dordrecht: Springer, 201–221
- Frigaard NU, Voigt GD, Bryant DA (2002). *Chlorobium tepidum* mutant lacking bacteriochlorophyll *c* made by inactivation of the *bchK* gene, encoding bacteriochlorophyll *c* synthase. *J Bacteriol*, 184 (12): 3368–3376
- Garcia-Gil LJ, Gich FB, Fuentes-Garcia X (2003). A comparative study of *bchG* from green photosynthetic bacteria. *Arch Microbiol*, 179 (2): 108–115
- Garg H, Loughlin PC, Willows RD, et al (2017). The C2¹-formyl group in chlorophyll *f* originates from molecular oxygen. *J Biol Chem*, 292 (47): 19279–19289
- Glaeser J, Bañeras L, Rütters H, et al (2002). Novel bacteriochlorophyll *e* structures and species-specific variability of pigment composition in green sulfur bacteria. *Arch Microbiol*, 177 (6): 475–485
- Harada J, Mizoguchi T, Tsukatani Y, et al (2014). Chlorophyllide *a* oxidoreductase works as one of the divinyl reductases specifically involved in bacteriochlorophyll *a* biosynthesis. *J Biol Chem*, 289 (18): 12716–12726
- Harada J, Saga Y, Yaeda Y, et al (2005). In vitro activity of C-20 methyltransferase, BchU, involved in bacteriochlorophyll *c* biosynthetic pathway in green sulfur bacteria. *FEBS Lett*, 579 (9): 1983–1987
- Harada J, Teramura M, Mizoguchi T, et al (2015). Stereochemical conversion of C3-vinyl group to 1-hydroxyethyl group in bacteriochlorophyll *c* by the hydratases BchF and BchV: adaptation of green sulfur bacteria to limited-light environments. *Mol Microbiol*, 98 (6): 1184–1198
- Helfrich M, Bommer B, Oster U, et al (2003). Chlorophylls of the *c* family: absolute configuration and inhibition of NADPH:protochlorophyllide oxidoreductase. *BBA-Bioenergetics*, 1605 (1–3): 97–103
- Heyes DJ, Heathcote P, Rigby SEJ, et al (2006). The first catalytic step of the light-driven enzyme protochlorophyllide oxidoreductase proceeds via a charge transfer complex. *J Biol Chem*, 281 (37): 26847–26853
- Ho MY, Shen G, Canniffe DP, et al (2016). Light-dependent chlorophyll *f* synthase is a highly divergent paralog of PsbA of photosystem II. *Science*, 353 (6302): aaf9178
- Huster MS, Smith KM (1990). Biosynthetic studies of substituent homologation in bacteriochlorophylls *c* and *d*. *Biochemistry*, 29 (18): 4348–4355
- Lange C, Kiesel S, Peters S, et al (2015). Broadened substrate specificity of 3-hydroxyethyl bacteriochlorophyllide *a* dehydrogenase (BchC) indicates a new route for the biosynthesis of bacteriochlorophyll *a*. *J Biol Chem*, 290 (32): 19697–19709
- Li B, Bridwell-Rabb J (2019). Aerobic enzymes and their radical SAM enzyme counterparts in tetrapyrrole pathways. *Biochemistry*, 58 (2): 85–93
- Liu Z, Bryant DA (2011). Identification of a gene essential for the first committed step in the biosynthesis of bacteriochlorophyll *c*. *J Biol Chem*, 286 (33): 22393–22402
- Maresca JA, Chew AGM, Ponsati MR, et al (2004). The *bchU* gene of *Chlorobium tepidum* encodes the C-20 methyltransferase in bacteriochlorophyll *c* biosynthesis. *J Bacteriol*, 186 (9): 2558–2566
- Moss GP (1988). Nomenclature of tetrapyrroles: Recommendations 1986. *Eur J Biochem*, 178 (2): 277–328
- Nomata J, Mizoguchi T, Tamiaki H, et al (2006). A second nitrogenase-like enzyme for bacteriochlorophyll biosynthesis: reconstitution of chlorophyllide *a* reductase with purified X-protein (BchX) and YZ-protein (BchY-BchZ) from *Rhodobacter capsulatus*. *J Biol Chem*, 281 (21): 15021–15028
- Oh JI, Eraso JM, Kaplan S (2000). Interacting regulatory circuits involved in orderly control of photosynthesis gene expression in *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1. *J Bacteriol*, 182 (11): 3081–3087
- Pinta V, Picaud M, Reiss-Husson F, et al (2002). *Rubrivivax gelatinosus* *acsF* (previously *orf358*) codes for a conserved, putative binuclear-iron-cluster-containing protein involved in aerobic oxidative cyclization of Mg-protoporphyrin IX monomethylester. *J Bacteriol*, 184 (3): 746–753
- Porra RJ (1997). Recent progress in porphyrin and chlorophyll biosynthesis. *Photochem Photobiol*, 65 (3): 492–516
- Porra RJ, Schäfer W, Gad'on N, et al (1996). Origin of the two carbonyl oxygens of bacteriochlorophyll *a*: demonstration of two different pathways for the formation of ring E in *Rhodobacter sphaeroides* and *Roseobacter denitrificans*, and a common hydratase mechanism for 3-acetyl group formation. *Eur J Biochem*, 239 (1): 85–92
- Reid JD, Hunter CN (2004). Magnesium-dependent ATPase activity and cooperativity of magnesium chelatase from

- Synechocystis* sp. PCC6803. *J Biol Chem*, 279 (26): 26893–26899
- Saunders AH, Golbeck JH, Bryant DA (2013). Characterization of BciB: A ferredoxin-dependent 8-vinyl-protochlorophyllide reductase from the green sulfur bacterium *Chloroherpeton thalassium*. *Biochemistry*, 52 (47): 8442–8451
- Scheer H (2006). An overview of chlorophylls and bacteriochlorophylls: biochemistry, biophysics, functions and applications. In: Grimm B, Porra RJ, Rüdiger W, et al (eds). *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications*. Dordrecht: Springer, 1–26
- Schliep M, Crossett B, Willows RD, et al (2010). ^{18}O labeling of chlorophyll *d* in *Acaryochloris marina* reveals that chlorophyll *a* and molecular oxygen are precursors. *J Biol Chem*, 285 (37): 28450–28456
- Suzuki JY, Bauer CE (1995). A prokaryotic origin for light-dependent chlorophyll biosynthesis of plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92 (9): 3749–3753
- Suzuki JY, Bollivar DW, Bauer CE (1997). Genetic analysis of chlorophyll biosynthesis. *Annu Rev Genet*, 31 (1): 61–89
- Tamiaki H, Teramura M, Tsukatani Y (2016). Reduction processes in biosynthesis of chlorophyll molecules: chemical implication of enzymatically regio- and stereoselective hydrogenations in the late stages of their biosynthetic pathway. *Bull Chem Soc Jpn*, 89 (2): 161–173
- Teramura M, Harada J, Mizoguchi T, et al (2016a). *In vitro* assays of BciC showing C13²-demethoxycarbonylase activity requisite for biosynthesis of chlorosomal chlorophyll pigments. *Plant Cell Physiol*, 57 (5): 1048–1057
- Teramura M, Harada J, Tamiaki H (2016b). *In vitro* stereospecific hydration activities of the 3-vinyl group of chlorophyll derivatives by BchF and BchV enzymes involved in bacteriochlorophyll *c* biosynthesis of green sulfur bacteria. *Photosynth Res*, 130 (1–3): 33–45
- Thweatt JL, Ferlez BH, Golbeck JH, et al (2017). BciD is a radical *S*-adenosyl-L-methionine (SAM) enzyme that completes bacteriochlorophyllide *e* biosynthesis by oxidizing a methyl group into a formyl group at C-7. *J Biol Chem*, 292 (4): 1361–1373
- Tsuchiya T, Mizoguchi T, Akimoto S, et al (2012). Metabolic engineering of the Chl *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina*: production of a novel Chl species by the introduction of the chlorophyllide *a* oxygenase gene. *Plant Cell Physiol*, 53 (3): 518–527
- Tsukatani Y, Harada J, Nomata J, et al (2015). *Rhodobacter sphaeroides* mutants overexpressing chlorophyllide *a* oxidoreductase of *Blastochloris viridis* elucidate functions of enzymes in late bacteriochlorophyll biosynthetic pathways. *Sci Rep*, 5: 9741
- Tsukatani Y, Yamamoto H, Harada J, et al (2013a). An unexpectedly branched biosynthetic pathway for bacteriochlorophyll *b* capable of absorbing near-infrared light. *Sci Rep*, 3: 1217
- Tsukatani Y, Yamamoto H, Mizoguchi T, et al (2013b). Completion of biosynthetic pathways for bacteriochlorophyll *g* in *Helio bacterium modesticaldum*: The C8-ethylidene group formation. *BBA-Bioenergetics*, 1827 (10): 1200–1204
- Vogl K, Tank M, Orf GS, et al (2012). Bacteriochlorophyll *f*: properties of chlorosomes containing the “forbidden chlorophyll”. *Front Microbiol*, 3: 298
- Walker CJ, Willows RD (1997). Mechanism and regulation of Mg-chelatase. *Biochem J*, 327 (2): 321–333
- Wang P, Gao J, Wan C, et al (2010). Divinyl chlorophyll(ide) *a* can be converted to monovinyl chlorophyll(ide) *a* by a divinyl reductase in rice. *Plant Physiol*, 153: 994–1003
- Willows RD, Li Y, Scheer H, et al (2013). Structure of chlorophyll *f*. *Org Lett*, 15 (7): 1588–1590
- Yamazaki S, Nomata J, Fujita Y (2006). Differential operation of dual protochlorophyllide reductases for chlorophyll biosynthesis in response to environmental oxygen levels in the cyanobacterium *Leptolyngbya boryana*. *Plant Physiol*, 142 (3): 911–922
- Zapata M, Garrido JL, Jeffrey SW (2006). Chlorophyll *c* pigments: current status. In: Grimm B, Porra RJ, Rüdiger W, et al (eds). *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications*. Dordrecht: Springer, 40–50

The structural differences and biosynthesis of chlorophyll family members

LIU Cheng^{1,#}, JIANG Dacheng^{1,2,#}, SONG Xiaoxu¹, QIU Nianwei¹, ZHOU Feng^{3,*}

¹*School of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu, Shandong 273165, China*

²*Shanghai Institute of Nutrition and Health, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*

³*School of Food Science, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing 211171, China*

Abstract: Chlorophylls are essential for plants, playing a central role in the absorption, transmission and transduction of light energy in photosynthesis. At present, more than ten members of chlorophyll family involved in photosynthesis have been identified. This review succinctly summarizes the structural characteristics and the differences of these chlorophylls, systematically introduces the biosynthesis pathways of all known photosynthetic chlorophylls and related synthetic enzymes, and expounds the relationship among chlorophyll members. The above contents would provide a reference for the plant photosynthesis research and the biological function research of chlorophyll, and would also assist teaching on chlorophylls.

Key words: chlorophyll; bacteriochlorophyll; chemical structure; biosynthesis

Received 2019-07-29 Accepted 2020-01-12

This work was supported by the Key Project of Natural Science Research in Colleges and Universities in Jiangsu Province (19KJA310009), the Postgraduate Education Innovation Project of Shandong Province (SDYY16087), and the National Undergraduate Training Programs for Innovation and Entrepreneurship (201810446041).

#Co-first authors.

*Corresponding author (zfbcas@163.com).